



吉林省地方计量技术规范

JJF（吉）105—2022

快速核酸检测仪校准规范

Calibration Specification for Rapid Nucleic Acid Detectors

2022-11-21发布

2023-01-01实施

吉林省市场监督管理厅 发布

快速核酸检测仪校准规范

Calibration Specification for
Rapid Nucleic Acid Detectors

JJF (吉) 105-2022

归口单位：吉林省市场监督管理厅

主要起草单位：吉林省计量科学研究院

参加起草单位：山东中测华溯仪器仪表有限公司

山东汇力环保科技有限公司

本规范由吉林省计量科学研究院负责解释

本规范主要起草人：

吴明岳 （吉林省计量科学研究院）

何佳融 （吉林省计量科学研究院）

李杰 （吉林省计量科学研究院）

参加起草人：

李春明 （山东中测华溯仪器仪表有限公司）

陈爱芝 （山东汇力环保科技有限公司）

目 录

引言	(II)
1 范围	(1)
2 引用文件	(1)
3 术语	(1)
4 概述	(2)
5 计量特性	(2)
6 校准条件	(3)
6.1 环境条件	(3)
6.2 测量标准及其他设备	(3)
7 校准项目和校准方法	(4)
7.1 校准项目	(4)
7.2 温度校准	(4)
7.3 检出限的检查	(9)
7.4 样本检测重复性	(9)
8 校准结果表达	(9)
9 复校时间间隔	(10)
附录 A 校准结果记录参考格式	(11)
附录 B 校准证书内页参考格式	(14)
附录 C 快速核酸检测仪温度偏差的测量不确定度评定示例	(15)

引 言

本规范是以JJF1071-2010《国家计量校准规范编写规则》、JJF1007-2007《温度计量名词术语及定义》、JJF1265-2010《生物计量术语及定义》、JJF1001-2011《通用计量术语及定义》和JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》为基础性系列规范进行编写。

本规范包含了对快速核酸检测仪温度、荧光参数的计量要求和具体校准项目。计量性能主要包括温度示值误差、平均升温速率、平均降温速率、平均温度过冲量、温度波动度、温度持续时间准确性、检出限、样本检测重复性的具体要求。

本规范为首次发布。

快速核酸检测仪校准规范

1 范围

本规范适用于基于控温基因扩增技术的快速核酸检测仪的核酸释放、逆转录、PCR 扩增的校准，其他类似设备也可参照本规范进行校准。

2 引用文件

JJF 1527-2015 聚合酶链反应分析仪校准规范

YY / T 1173-2010 聚合酶链反应分析仪

JJF 1101-2019 环境试验设备温度、湿度参数校准规范

JJF (冀) 200—2022 快速核酸检测仪校准规范

凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本规范；凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本规范。

3 术语

3.1 核酸 nucleic acid

由核苷酸或脱氧核苷酸通过3′，5′-磷酸二酯键连接而成的一类生物大分子，主要是储存遗传信息和传递遗传信息。包括核糖核酸（RNA）和脱氧核糖核酸（DNA）两类。

3.2 超过荧光阈值的循环数 Number of cycles exceeding fluorescence threshold

实时检测扩增过程中，反应管内的荧光信号到达指数扩增时经历的循环周期数。

3.3 恒温核酸扩增 thermostatic nucleic acid amplification

在目标基因的特定区域设计特异性引物，并使用链置换 DNA 聚合酶在恒温条件下保温数 10 分钟以实现核酸扩增的方法。

3.4 拷贝数 copy number

特定基因在某一生物体基因组中所含的个数以及每个生物细胞中所具有的转录物（RNA）个数。

3.5 检出限 limit of detection

为某特定分析方法在给定的置信度内可从样品中检出待测物质的最小浓度或最小量。

3.6 温度偏差 temperature indication error

恒温过程中模块内实测最高温度和最低温度与设定温度的上下偏差。

3.7 平均升温速率 mean heating rate

升温过程中模块单位时间内上升的平均温度。

3.8 平均降温速率 mean cooling rate

降温过程中模块单位时间内下降的平均温度。

3.9 平均过冲温度 mean temperature overshoot

从基础升温至设定温度时模块内实测温度超出设定温度的温度值。

3.10 温度波动度 temperature fluctuation

恒温过程中模块内实测温度随时间的变化量。

3.11 温度持续时间偏差 temperature duration

计量标准器所记录恒温时间与模块设定恒温时间的差值。

4 概述

快速核酸检测仪通常是指基于实时荧光 PCR 技术、恒温核酸扩增技术的便携式的检测仪器。快速核算检测仪将核酸提取、扩增和检测整合于一体并同时进行，将样本加入该系统，自动完成检测和结果分析，在更短时间内完成对核酸分子的扩增。

快速核酸检测仪主要由反应模块、光源模块、磁导模块、加热模块、光电检测系统、显示模块等部分组成，需与专用的核酸检测试剂盒配套使用。

5 计量特性

计量特性见表 1。

表 1 快速核酸检测仪计量特性

类型	实时荧光 PCR 技术	等温扩增技术
温度偏差	$\leq \pm 0.5^{\circ}\text{C}$	
平均升温速率	$\geq 3^{\circ}\text{C/s}$	---
平均降温速率	$\geq 2^{\circ}\text{C/s}$	---
最大过冲温度	$\leq 2^{\circ}\text{C}$	---
温度波动度	$\leq \pm 0.5^{\circ}\text{C}$	$\leq \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
持续时间偏差	$\leq \pm 10\%$	---
检出限	$\leq 500 \text{ copies/mL}$	
样本检测重复性	$\leq 5\%$	

6 校准条件

6.1 环境条件

温度：10℃～40℃；

相对湿度：不大于 85%RH。

6.2 测量标准及其他设备

6.2.1 温度测量标准

一般选用单支的无线温度数据采集仪，可匹配不同形状、不同结构的快速核酸检测仪反应模块并接触良好、紧密贴合，且能满足校准工作的需求。

6.2.2 时间测量标准

采用无线温度数据采集仪的记录时间作为时间测量标准。

6.2.3 标准物质

采用国内有证标准物质。本规范采用新型冠状病毒核酸标准物质为例，若快速核酸检测仪用于检测其他病原体可采用相应的有证标准物质。

6.2.4 移液器

根据被校快速核酸检测仪适配的核酸检测试剂盒的样品量，选择适用型号的移液器。

6.2.5 技术要求

测量标准及其他设备技术指标要求见表 2。

表 2 测量标准及其他设备技术指标

序号	名称	规格		技术要求
1	快速核酸检测仪专用无线温度校准装置	温度	0~120℃	分辨力：不低于 0.01 ℃ 最大允许误差：≤±0.1℃ 记录时间间隔：≤0.1s
2		时间	----	分辨力：不低于 0.1s 最大允许误差：≤±1s / h
3	新型冠状病毒核酸标准物质	FAM	定值	有证标准物质
		JOE	定值	有证标准物质
		ROX	定值	有证标准物质
4	移液器	(2.5、10、100、200、1000、5000) μL		检定合格
注：也可以选择满足校准要求的其他测量标准；若快速核酸检测仪用于检测其他病原体可采用相应的有证标准物质。				

7 校准项目和校准方法

7.1 校准项目

校准项目见表 3。

表 3 快速核酸检测仪校准项目

项目	实时荧光 PCR 技术	恒温扩增技术
温度偏差	+	+
平均升温速率	+	—
平均降温速率	+	—
最大温度过冲量	+	—
温度波动度	+	+
温度持续时间偏差	+	—
最小检出限的 Ct 值	+	+
Ct 值重复性	+	+
注：+表示应校准；—表示不校准。		

7.2 温度校准

7.2.1 测量点位置和数量

独立控温模块快速核酸检测仪可逐个模块校准或同时对多个模块分别校准，参照图 1 所示。非独立控温的快速核酸检测仪作为一个整体进行温度校准，以 8 通道、16 通道快速核酸检测仪为例，布点遵循均匀分布的原则，可参照图 2 所示，每增加 8 通道可增加 3 个温度校准点。

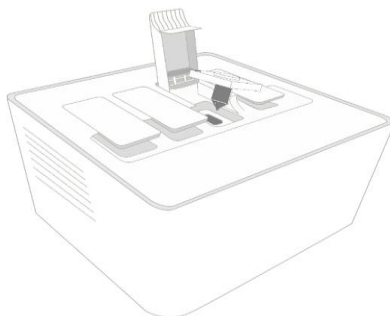


图 1 独立模块快速核酸检测仪布点示意图

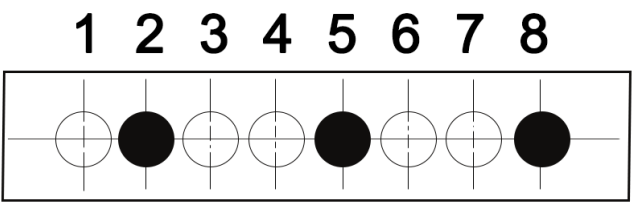


图 2（a）8 通道快速核酸检测仪布点示意图

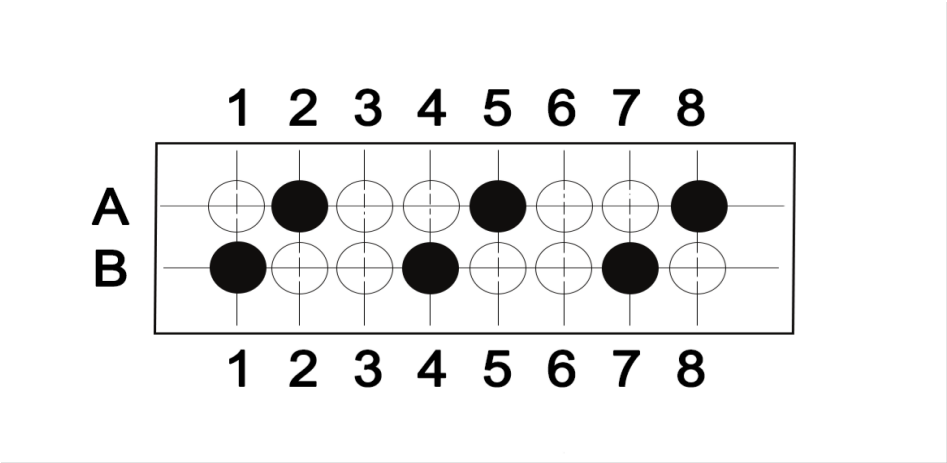


图 2（b）16 通道快速核酸检测仪布点示意图

基于实时荧光 PCR 扩增技术的快速核酸检测仪，设定控温程序，如表 4 所示。将温度校准装置置入样品槽中，设置采样间隔为 0.1s，启动温度测量标准，采集并记录整个循环程序温度数据。

表 4 基于实时荧光 PCR 扩增技术的快速核酸检测仪控温程序

步骤	设定温度点/℃	设定温度持续时间/s	循环数
1	50	10	×1
2	90	10	×1
3	40	10	×6
4	95	10	
5	70	10	×1
6	60	10	×1
7	40	10	×1

基于等温扩增技术的快速核酸检测仪温度设定程序可参照表 5 进行。将专用无线温度校准装置置于样品槽内，启动温度测量标准，自动采集并记录整个循环程序温度数据。

表 5 基于等温扩增技术的快速核酸检测仪控温程序

步骤	设定温度点/℃	设定温度持续时间/min	循环数
1	55	10	×1
2	60	10	×1

7.2.2 温度偏差的计算

独立模块或单通道的快速核酸检测仪以所有测量点计算结果的最大值作为测量结果。按照公式 (1) (2) 分别计算：

$$\Delta T_d = \bar{T}_c - T_s \quad (1)$$

$$\bar{T}_c = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n T_i \quad (2)$$

式中： ΔT_d ——快速核酸检测仪模块温度偏差，℃；

T_s ——快速核酸检测仪模块设定温度，℃；

$\bar{T}_c$ ——该模块温度实测值的平均值，℃；

T_i ——该模块校准装置第 i 次的测量值，℃；

n ——恒温时间内数据采集次数。

7.2.3 平均升温速率的计算

截取各循环从 50℃瞬时升温至 90℃瞬时的温度曲线计算升温速率，平均升温速率的计算按照公式 (3) (4) (5) 计算：

$$V_{ui} = \frac{(T_{B升} - T_{A升})}{t} \quad (3)$$

$$\bar{V}_{ui} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m V_{ui} \quad (4)$$

$$\bar{V}_u = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \bar{V}_{ui} \quad (5)$$

式中： V_{ui} ——第 i 个循环升温速率，℃/s ；

$\bar{V}_{ui}$ ——该模块平均升温速率，℃/s ；

m ——累积循环数，按本规范程序设置为 6；

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/056052051241010210>